

To: Jan Hasak
From : Ruben Diaz, Genentech Library, x56122
Date: 11/22/06

Database searched:

FILE WPIDS
FILE LAST UPDATED: 20 NOV 2006 <20061120/UP>
MOST RECENT THOMSON SCIENTIFIC UPDATE: 200674 <200674/DW>
DERWENT WORLD PATENTS INDEX SUBSCRIBER FILE, COVERS 1963 TO DATE

Search requested: English abstracts of: JP 1-226827, 8-506247, and 2-222697

Please call if you have any questions.

JP 1-226827 English abstract

=> dis 11 bib ab tech 1

L1 ANSWER 1 OF 1 WPIDS COPYRIGHT 2006 THE THOMSON CORP on STN
AN 1989-229507 [32] WPIDS Full-text
DNC C1989-101844 [21]
TI Use of insulin-like growth factor I - for improving glomerular
filtration and renal plasma flow in treatment of renal diseases
DC B04
IN FROESCH E R; GULER H; GULER H P; SCHMID C; ZAPF J
PA (CIBA-C) CIBA GEIGY AG; (CIBA-C) CIBA GEIGY CORP; (NOVS-C) NOVARTIS AG
CYC 17
PIA EP 327503 A 19890809 (198932)* EN 17[7]
AU 8928998 A 19890810 (198940) EN
DK 8900520 A 19890806 (198942) DA
JP 01226827 A 19890911 (198942) JA
ZA 8900813 A 19890927 (198944) EN
US 5106832 A 19920421 (199219) EN 13
<--
EP 327503 B1 19930310 (199310) EN 18[7]
DE 68905203 E 19930415 (199316) DE
DK 169232 B 19940919 (199436) DA
CA 1336400 C 19950725 (199537) EN
JP 2783825 B2 19980806 (199836) JA 9
KR 131088 B1 19980417 (200012) KO
ADT EP 327503 A EP 1988-810071 19880205; EP 327503 A EP 1989-810073
19890126; DE 68905203 E DE 1989-68905203 19890126; EP 327503 B1 EP
1989-810073 19890126; DE 68905203 E EP 1989-810073 19890126; ZA
8900813 A ZA 1989-813 19890202; CA 1336400 C CA 1989-590026 19890203;
DK 169232 B DK 1989-520 19890203; JP 2783825 B2 JP 1989-24104
19890203; KR 131088 B1 KR 1989-1311 19890204; JP 01226827 A JP
1989-24104 19890228; US 5106832 A US 1990-634772 19901221
FDT DK 169232 B Previous Publ DK 8900520 A; DE 68905203 E Based on EP
327503 A; JP 2783825 B2 Previous Publ JP 01226827 A
PRAI EP 1989-810073 19890126
EP 1988-810071 19880205
AB EP 327503 A UPAB: 20050428

A pharmaceutical preparation is claimed consisting of insulin-like growth factor I (IGF I) for improving glomerular filtration and renal plasma flow.

The pref. source of IGF I is recombinant human IGF I (rhIGF I) prepared eg according to EP-123228.

USE/ADVANTAGE - The KGF I causes a lowering of the plasma levels of toxic metabolites such as nitrogen containing cpds. e.g. creatinine, urea, uric acid and their metabolites and of ions. It can be used for the treatment of renal diseases, especially glomerulonephritis, interstitial nephritis, pyelonephritis, glomerulosclerosis, eg Kimmelstiel-Wilson in diabetic patients and kidney failure after kidney-transplantation.

訂正有り

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平1-226827

⑬ Int. Cl.⁴

A 61 K 37/36

識別記号

ACV
ACX

庁内整理番号

8615-4C

⑬ 公開 平成1年(1989)9月11日

審査請求 未請求 請求項の数 5 (全11頁)

⑭ 発明の名称 腎臓疾患治療用医薬製剤

⑮ 特 願 平1-24104

⑯ 出 願 平1(1989)2月3日

優先権主張 ⑰ 1988年2月5日 ⑱ 欧州特許機構(E P) ⑲ 88810071.6

⑳ 発 明 者 エルンスト ルドルフ スイス国, 8703 エルレンバハ, ベルクリシュトラーク
フレツシュ 11

㉑ 発 明 者 ハンス・ベーター グ スイス国, 8134 アドリスビル, ビューヒュルライン 11
ラー

㉒ 発 明 者 クリストフ シュミツ スイス国, 8044 チューリヒ, ホフシュトラーク 81
ト

㉓ 出 願 人 チバーガイギー アク スイス国, 4002 バーゼル, クリベツクシュトラーク
チエンゲゼルシャフト 141

㉔ 代 理 人 弁理士 青 木 朗 外4名

最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

腎臓疾患治療用医薬製剤

2. 特許請求の範囲

1. 療法的に有効な量のインシュリン様成長因子を含んで成る、糸球体濾過及び腎血漿流を改善するための医薬製剤。

2. 療法的に有効な量のインシュリン様成長因子を含んで成る、腎機能の損傷を治療するための医薬製剤。

3. 50mg～300mgのインシュリン様成長因子を含むアンブルである請求項1又は2に記載の医薬製剤。

4. 単位投与型の請求項1又は2に記載の医薬製剤を複数個含む医薬パック。

5. さらに使用指示書を含む、請求項4に記載の医薬パック。

3. 発明の詳細な説明

(発明の分類)

本発明は、糸球体濾過もしくは腎血漿流

(renal plasma flow)を改善するための、又は腎機能の損傷を治療するための、インシュリン様成長因子 I (IGF-I)を含んで成る医薬に関する。

〔背景技術〕

急性及び慢性の腎疾患はヒトの間に拡がっている。腎疾患の例には糸球体腎炎、慢性腎炎、腎盂腎炎、糸球体硬化症、例えば糖尿病患者におけるキンメルスチール・ウィルソン (Kimmelstiel-Wilson)、及び腎臓移植後免疫拒絶がある。これらの疾患はそれぞれ、自己免疫過程、種々の薬物、細菌侵入、又は変性病変 (degenerative lesion) により惹起される。腎疾患の治療は原因に依存し、例えば細菌侵入は抗生物質の適用により治療され、あるいは他の例として、腎臓移植後免疫拒絶は免疫抑制 (グルココルチコイド類、サイクロスポリン A 等) により治療される。低下した糸球体濾過及び腎血漿流は上記の機構のいずれによっても起こり、そして今日まで治療できなかった。可能な場合はいつでも、上記の腎疾患の治療は上記の病

(2)

原機構の原因を除去することから成る。低下した糸球体濾過及び腎血漿流の結果、窒素含有代謝産物、例えばクレアチニン、尿素及び尿酸、薬物及びその代謝物、並びに無機又は有機塩基の陽イオン及び陰イオンの血中レベルが上昇する。これらの代謝産物及びイオンのあるものは毒性であり、そしてそれ故にある種の疾患又は少なくとも不快効果の理由となる。

このような毒性効果の治療のための現在の方法の主たる欠点は、進行した腎疾患の場合にはこれらがほとんど無効だということである。従来、糸球体濾過及び腎血漿流を改善する使用可能な薬物は存在しない。これらの欠点を克服することが決定的に必要である。

驚くべきことに、IGF-Iが糸球体濾過及び腎血漿流を、特に長期にわたって、改善することが今や見出された。好ましくは、全身体中の塩/水バランスはIGF-Iによる治療の同一定に維持される。

最近、IGF-Iは静脈内ボルス(bolus)注射の後にヒトにおいて血液グルコースを低下せしめるこ

とが示された(1)。IGF-Iの他の効果は、一般に低いIGF-Iレベルを有する幾つかの代謝条件、例えば下垂体除去されたラット(2)、糖尿病ラット(3)及び Snell dwarf(マウス(4))において証明されている成長促進作用である。さらに、下垂体除去されたラット(5)におけるIGF-Iの延長された皮下注入は腎臓の有意な重量増加を導いた。

Snell dwarf(マウス(4))において類似の知見が報告された。これらすべての研究において、IGF-Iによる腎機能のなんらかの改善を示すものは存在しない。特に、IGF-I投与中の糸球体濾過及び腎血漿流の改善についての報告は存在しない。

〔発明の目的〕

本発明の目的は、糸球体濾過及び腎血漿流を改善し、それによって毒性代謝産物、例えば窒素含有化合物、例えばクレアチニン、尿素、尿酸、薬物及びその代謝産物、並びにイオンの血漿レベルの低下を惹起せしめることである。この発明の他の目的は、単位投与形で且つ前記有利な効果を達

成する量でIGF-Iを含有する医薬組成物を提供することである。

〔具体的な記載〕

この発明は患者における糸球体濾過及び腎血漿流を改善するための方法に関連し、この方法はIGF-Iの有効量を該患者に投与することと特徴とする。

糸球体濾過及び腎血漿流の改善は腎疾患を有する患者において非常に好ましい効果であるから、本発明は、腎疾患、特に糸球体腎炎、腸性腎炎、腎盂腎炎、糸球体硬化症、例えば糖尿病患者におけるキンメルスチール-ウィルソン、及び腎臓移植後の腎不全の治療法に関連し、この方法は糸球体濾過及び腎血漿流を改善するのに療法的に有効な量を投与することを含んで成る。

本発明は特に、ヒトIGF-Iを用いるヒトの治療に関するが、しかしながら、これはまた低下した糸球体濾過及び腎血漿流を有する動物にも適用される。

糸球体濾過はクレアチニン又はイヌリンのクリアランスとして定義される糸球体濾過速度を決定することにより測定される。腎血漿流は¹²⁵I-ヨウドヒップレート(iodohippurate)のクリアランスを決定することにより測定される。

天然の又は合成的に製造された任意の由来のIGF-Iを使用することができる。例えばEP 123 228に従って製造された組換えヒトIGF-I(rhIGF-I)が好ましい。

有効量は、糸球体濾過速度及び腎血漿流を、例えばそれぞれ約30%及び約25%増加せしめるものとして定義される。

この効果を達成するため、IGF-Iが静脈内に、皮下に又は筋肉内に約24 µg/kg/日~約720 µg/kg/日の投与量で、あるいは連続的に投与する場合には約1 µg/kg/時~約30 µg/kg/時で、それぞれ1日2~3回の注射により、あるいは連続的皮下注入により投与される。

投与量は言うまでもなく腎不全の程度、投与のルート、個体の体重治療されるべき患者の一般的

状態により調整されるべきであり、そして最終的には医師の判断に依存する。血液グルコースをモニターし、そして低血糖症を予防するように注意すべきである。

糸球体濾過及び腎血漿流の改善による腎疾患のための医薬組成物は有効量のIGF-I、すなわち約10mg〜約300mgの量のIGF-Iから成る。

一般に、医薬調製物は有効量の活性成分を、無機又は有機の固体又は液体の、好ましくは非経腸投与のために好適な、医薬として許容されるキャリアーと一緒に、又はこれらと混合して、含有する。

本発明の活性化合物は、医薬調製物、例えば、非経口的、例えば皮下、筋肉中又は静脈内投与のための製剤又は注入溶液の形で好適に使用される。この様な溶液は、例えば活性成分を単独で又は医薬として許容される担体と共に含有する凍結乾燥された調製物から、使用前に調製することができる、好ましくは等張性の水性溶液又は懸濁液である。医薬調製物は無菌化することができ、そして

(3)／又は添加剤、例えば防腐剤、安定剤、湿潤剤及び／又は乳化剤、可溶化剤、浸透圧調整塩及び／又は緩衝剤を含有することができる。本発明の医薬調製物は、他の薬理学的に価値ある物質を含有することができ、それ自体既知の方法により、例えば常用の溶解法又は凍結乾燥法により製造され、そして約0.1%〜100%、特に約1%〜約50%、そして凍結乾燥物の場合には100%までの活性成分を含有する。

本発明はさらに、不十分な糸球体濾過及び腎血漿流を導く腎疾患を有する患者の治療のための医薬調剤の使用に関する。

本発明はまた、例えば不十分な糸球体濾過及び腎血漿流により生ずる腎疾患の治療のための医薬調剤の製造のためのIGF-Iの使用に関し、この製剤は使用指示書を伴うことができる。

本発明はさらに、IGF-Iを含んで成る製剤又はバックに関し、そしてその使用指示書を伴うことができる。

次に、本発明の医薬調製物の例を記載するが、

これによって本発明の範囲を限定するものではない。これらの例において、特にことわらない限り粗換ヒトIGF-I(rhIGF-I)を意味する。

医薬調剤の例

50mg又は300mgのIGF-Iを含む乾燥アンブル：それぞれ5ml又は50mlの容量のアンブルに、無菌濾過した10%(w/v)のIGF-I水溶液それぞれ5ml又は30mlを充填し、そして凍結乾燥する。対応する容量(5ml又は30ml)の無菌水、生理的食塩水又は0.1M酢酸を添加することにより注入溶液を調製する。

医薬セットは1コースの、例えば6日間の治療のために必要な所望数のアンブルを含み、そして場合によっては、該医薬が注入されるべき時間を規定する使用指示書を含む。

1. ヒトの治療の例

対象者

年齢/体重/身長が(1)38/65/172、及び(2)34/61/172、である2人の男性をこの臨床試験における正常対象者として使用した。彼らの

体重は理想的であり、そして彼らは病気の臨床的証拠を有さずそしてなんらの治療も受けていなかった。一般的血液検査、血液化学及び内分泌パラメーターは正常の範囲内であった。

実験方法

最初の対照期間中に基礎値を得、その後IGF-Iを連続皮下注入により6日間投与した。この方法及び投与期間はIGF-Iの一定血清レベルが達成されるように選択した。この研究は第二の対象期間をもって終了した。食事の摂取は全研究期間にわたり厳格に制御し、1日当たり2500Kカロリー(25%の蛋白質、すなわち体重kg当り蛋白質1.9g、20%の脂肪、及び50%の炭水化物)とした。

対象者(1)

両対照期間を3日間続けた。治療の第一日目に、IGF-Iをまず32.0μg/kg体重/時の任意量で注入した。IGF-Iのこの投与量が低血糖症を生じさせた(結果の項を参照のこと)。次の5日間の20.0μg/kg体重/時は安全であることが見出され、血液グルコースは正常に維持された。6日間に注

入されたIGF-1の合計量は184.3mgであった。

対象者(2)

両対照期間を5日間とした。IGF-1を対象者(1)と同じ投与量($20.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/時)で合計6日間注入した。IGF-1の投与量は167.3mgとなった。

注入装置

小型のインシュリン注入装置〔MRS 1 Infusor (商標)、ディセトロニック(Pisetronic) AG, Burgdorf, アイス〕を使用した。IGF-1を0.1M酢酸に溶解した。 $25 \mu\text{l}/\text{時}$ を注入した。IGF-1を含有する注入器のカートリッジを3日後に再充填した。マイクロカテーテルを腹部の皮下に入れた。これを3日後に取り替え、そして最初のものから離れた位置に入れた。

静脈血

これは毎朝6～7時の間に採取した。これをすぐに氷上に置き、そして1時間後に遠心した。血清及び血漿を 1 ml ずつにわけて -20°C に貯蔵した。すべてのアッセイは解凍されたことのないサ

ンプルにおいて行った。

24時間尿

これは研究期間中続けて(午前6時～午前6時)採取した。幾つかのアリコートを -20°C にて貯蔵した。

組換ヒトIGF-1(rhIGF-1)

本発明の例において用いたIGF-1はEP 123 228に従って製造されたものであり、化学的及び生理学的に特徴付けられており、そして抽出され高度に精製されたヒトIGF-1と同一であることが見出されている。ヒトにおける今までの研究(1)において同じ材料が使用されている。

測定

全IGF-1及び遊離IGF-1はすでに記載されているラジオイムノアッセイ(6)により測定した。血中グルコースはYSI23Aグルコース分析機により決定した。他のすべての分析は、チューリッヒ大学病院の臨床化学部において行われた。

結果

対象者(1)におけるIGF-1投与(第1図)

3日間の対照日(ホルモンを全く用いない)の後、IGF-1注入を午前6時30分に $32.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/時の速度で始めた。血液グルコースは $4.4 \text{ mmol}/\text{l}$ であり、全IGF-1の血清レベルは $120 \text{ ng}/\text{ml}$ であり、そして遊離IGF-1のそれは $20 \text{ ng}/\text{ml}$ であった。13.5時間後に、合計 28.1 ng のIGF-1の注入の後及び最後の食事から8時間後、低血糖症の臨床症状を全く伴わないで血液グルコースは $2.6 \text{ mmol}/\text{l}$ に低下した。この時点までに全IGF-1の血清レベルは $683 \text{ ng}/\text{ml}$ に達し、そして遊離IGF-1の血清レベルは $123 \text{ ng}/\text{ml}$ であった。注入を一夜中止し、そして次の朝6時30分に $20.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/時の速度で再開した。この速度を対象者(1)においてその後5日間一定に保ち、そしてさらに対象者(2)においては6日間の全注入期間この速度を用いた。

臨床観察

IGF-1注入の1日目における対象者(1)での低

血糖エピソードは別として、他のこの様な現象は記録されなかった。両対象者は研究期間中正常のままであった。血圧、心拍数、体温、及び体重は安定したままであった。

血液グルコース

血液グルコースを一夜(12時間以上)の絶食の後毎日モニターした。研究期間中を通して正常限界内であった。対象者(2)においては、IGF-1注入の一夜の間に毎時測定した血液グルコースレベルは $3.6 \sim 4.4 \text{ mmol}/\text{l}$ であった。

全IGF-1の血清レベル(第2図)

注入を開始して数時間後にIGF-1のレベルは上昇し、そして13～14時間後 $700 \text{ ng}/\text{ml}$ のレベルに達した。2人の対象者のピークレベルはそれぞれ $980 \text{ ng}/\text{ml}$ 及び $920 \text{ ng}/\text{ml}$ であった。注入を停止した場合、IGF-1レベルは1日以内に正常範囲に低下した。

遊離IGF-1の血清レベル

対照日の間遊離IGF-1のレベルは $15 \sim 20 \text{ ng}/\text{ml}$ であり、そしてIGF-1の連続注入の間 $50 \sim 80 \text{ ng}/\text{ml}$

mlであった(7)。

クレアチニンの血漿レベル及びクレアチニンのクリアランス(第3図)

最初、2人の対象者はそれぞれ $90 \mu\text{mol/l}$ 及び $87 \mu\text{mol/l}$ の血漿クレアチニンレベルを有しており、クレアチニンのクリアランスはそれぞれ 122ml/分 及び 111ml/分 であった。IGF-I 注入の2日目～6日目においてクレアチニン両対象者において $73 \mu\text{mol/l}$ (それぞれベースライン値の81%及び84%) に低下し、そしてクレアチニンのクリアランスはそれぞれ 157ml/分 及び 144ml/分 (それぞれ対照の129%及び130%に相当する) に上昇した。腎機能のこれらの変化は、注入を停止した後短時間で注入前のレベルにもどった。

24時間当りのクレアチニンの排出は注入の同一一定のまま〔対象者(1)及び(2)においてそれぞれ $15.8 \pm 1.1 \text{mmol}$ 及び $14.2 \pm 1.3 \text{mmol}$ 〕であった。

尿素及び尿酸の血漿レベル(第4図)

血漿尿素レベルは、最初の対照期間のあいだ、それぞれ 5.8mmol/l 及び 7.6mmol/l であった。

20%の蛋白質($100\text{g}/24\text{時間}$)、30%の脂肪及び50%の炭水化物を含有した、塩化ナトリウムの摂取は 8g/日 であった。甲状腺に放射性ヨウ素が満たされるのを防止するため、非放射性ヨウ化ナトリウムを24時間当り 10mg の量で経口投与した。IGF-I 治療の前後数週間にわたり、同じ対象者にIGF-Iの注入を伴わない類似の実験を行った。

凍結乾燥したIGF-Iを 0.1ml の酢酸に溶解し、そしてHRS-3-注入器(Diseltronic AG, Burgdorf, スイス)により $26 \mu\text{l/時}$ の速度で皮下注入した。朝の血液サンプル及び24時間尿を毎日採取した。糸球体濾過速度(GFR)及び腎血漿流(RPF)を同時に、72時間目から74時間目の間に、一夜絶食後に測定した。リチウムのクリアランスを72時間目から79時間目の間に測定し、次に注入を停止した。

GFR及びRPFの測定

午前7時に、80分間にわたり水を経口摂取せしめることにより強制排尿($10 \sim 15 \text{ml/分}$)を行っ

(5)

これらは2日以内に 3.4mmol/l 及び 4.2mmol/l (ベースラインの59%及び55%に相当する) に低下し、そして注入が停止されるまでこのレベルで維持された。24時間当りの尿素の尿排出は、注入の前、注入中及び注入後において一定(それぞれ $4.59 \pm 0.41 \text{mmol}$ 及び $4.76 \pm 0.61 \text{mmol}$) であった。尿酸の血漿レベルはそれぞれ、 $268 \mu\text{mol/l}$ 及び $311 \mu\text{mol/l}$ から $137 \mu\text{mol/l}$ 及び $180 \mu\text{mol/l}$ (それぞれ、ベースラインの51%及び58%) に低下した。

2. ヒトの治療の例

対象者

2人の男性〔対象者(1)39才、74kg; 対象者(2)28才、66kg〕をこの試験における健康な対象者として用いた。彼らは病気の臨床症状及び兆候を有さず、そしていかなる治療も受けていなかった。日常的な実験室試験(血液、血清、尿)は正常限界内にあった。IGF-Iを合計79時間 $20 \mu\text{g/kg/時}$ の投与量で投与した。対象者は研究期間中 2000kcal/日 の食事を摂り、これは

た。各アイソトープの最初の静脈内ボルスの後、両アイソトープの連続静脈内注入を行った。合計 $57 \mu\text{Ci}$ の ^{125}I -ヨードサラメート(iodothalamate) (IM, 48P., アメルシヤム、バッキンガムシャー、英国) 及び $63 \mu\text{Ci}$ の ^{125}I -ヨードヒップレート(iodobhippurate) (IB, 315P., アメルシヤム、バッキンガムシャー、英国) を2時間にわたり投与した(8, 9)。20分間の6回隔にわたり尿及び血液サンプルを集めた。血清及び尿中の放射能を、1mlにつき、MR232-ガイガーカウンター(コントロール、チューリッヒ)中で計数し、最後の5個の20分間観察期間の値を用いて計算した。統計的解析はStudentのt-検定により行なった。

リチウムのクリアランス

液体及びナトリウムの近位及び遠位尿細管再吸収を測定するため、リチウムの腎クリアランスを測定した。リチウムは近位尿細管(proximal tubulus)中では完全に再吸収されるが、これは遠位尿細管(distal tubulus)においては全く再吸収されない(10)。腎機能研究の前日の午後10時に、

対象者に24 meolの硫酸リチウム〔リチオフォル (Lithiofor) (商標) 2錠、Vilor SA、シュネーブ〕を投与した。アイソトープのボルス注射の時から7時間後まで尿を集めた。収集期間の始め及び終りにおいて血清中のリチウムを測定し、両方の値の平均を用いて計算した。計算は第1表中の式に従って行った。

測定

IGF-Iはすでに記載されている(6)ラジオイムノアッセイにより測定した。尿中のアルブミンは免疫濁度法 (Niles Italiana S.p.A., Scientific Dept., Cavenago Brianza (ミラノ)、イタリーにより製造された市販のキットによる) により測定した。尿及び血清中のリチウムの測定はVarian AA-875原子吸収計により測定した(チューリッヒ大学病院の臨床化学部による)。

結果

最初に、IGF-Iの内因血清レベルは93~177 ng/mlであった。腎機能研究を行った場合、IGF-I血清レベルは対象者(1)及び(2)においてそれぞれ

502 ng/ml及び616 ng/mlであった。対象者(1)においてGFRは $121 \pm 12 \text{ ml/分/1.73m}^2$ から $159 \pm 12 \text{ ml/分/1.73m}^2$ に増加した($p < 0.0005$)。対象者(2)における対応する値は 120 ± 13 及び $158 \pm 16 \text{ ml/分/1.73m}^2$ ($p < 0.005$)であった(第5図)。同時に、RPFは対象者(1)において $548 \pm 56 \text{ ml/分/1.73m}^2$ から $592 \pm 65 \text{ ml/分/1.73m}^2$ に増加した($p < 0.005$)、そして対象者(2)において $518 \pm 84 \text{ ml/分/1.73m}^2$ から $634 \pm 72 \text{ ml/分/1.73m}^2$ に増加した($p < 0.025$) (第6図)。リチウムのクリアランスから計算した場合、液体及びナトリウムの近位及び遠位尿細管再吸収の類似の増加が認められた(第1表)。すべてのパラメーターは1週間後にベースラインにもどった。

注入の前、注入中及び注入後のすべての尿サンプル中のアルブミン排出は 30 mg/24時間 未満であった。正常な上限は現在 30 mg/24時間 と考えられている(11)。

体重は注入中一定(対象者(1)は74 kg、対象者(2)は66 kg)であった。血圧、心拍数及び体

温は正常限界内にあり、そして注入中変化しなかった。

第1表、第2表及び第3表に、リチウムのクリアランス、クレアチニンのクリアランス、浸透圧性及び自由水のクリアランス、並びに幾つかの血清パラメーターを示す。

第1表

2人の健康な対象者へのIGF-Iの定常的皮下注入の前(b)、注入中(注入が72時間続いた時)(d)及び注入後(a)でのリチウムのクリアランスにより測定された液体及びナトリウムの近位及び遠位尿細管再吸収

| | 対象者(1) | | | 対象者(2) | | |
|---|--------|-----|----|--------|-----|----|
| | b | d | a | b | d | a |
| 近位液体再吸収 ($GFR - C_{Li}$; ml/分) | 87 | 112 | 87 | 93 | 114 | 95 |
| 遠位液体再吸収 ($C_{Li} - V_u$; ml/分) | 29 | 41 | 18 | 20 | 38 | 20 |
| 近位Na再吸収 ($(GFR - C_{Li}) \times P_{Na}$; meol/分) | 12 | 16 | 12 | 13 | 16 | 11 |
| 遠位Na再吸収 ($(C_{Li} - C_{Na}) \times P_{Na}$; meol/分) | 4 | 6 | 3 | 3 | 6 | 3 |

第2表

2人の健康な対象者におけるIGF-Iの定常的皮下注入の前(b)、注入中(注入が72時間続いた時)(d)、及び注入後(a)におけるクリアランスの計算

| | 対象者(1) | | | 対象者(2) | | |
|---|--------|------|------|--------|------|------|
| | b | d | a | b | d | a |
| クレアチニンのクリアランス; ml/分 | 111 | 140 | 128 | 114 | 144 | 120 |
| 浸透圧クリアランス; ml/分 ($C_{osm} = U_{osm} \times V$) | 2.78 | 2.67 | 3.31 | 2.97 | 2.32 | 2.32 |
| 自由水クリアランス; ml/分 ($C_{自由水} = U_u - C_{osm}$) | 2.60 | 3.57 | 2.84 | 2.98 | 4.16 | 2.71 |

GFR: 糸球体濾過速度

C_{Li} : Li-クリアランス

V_u : 尿体積/分

P_{Na} : Naの血漿濃度

C_{Na} : Na-クリアランス

C_{osm} : 浸透圧クリアランス

U_{osm} : 尿浸透圧

P_{osm} : 血漿浸透圧

C自由水: 自由水クリアランス

第3表

2人の健康な対象者におけるIGF-Iの定常的皮下注入の前(b)、注入中(注入が72時間続いたとき)(d)、及び注入後(a)での血清パラメータ

| | 対象者(1) | | | 対象者(2) | | |
|--------------------|--------|------|------|--------|------|------|
| | b | d | a | b | d | a |
| ナトリウム (mmol/l) | 138 | 140 | 138 | 138 | 139 | 138 |
| カリウム (mmol/l) | 4.1 | 4.2 | 4.3 | 4.8 | 4.9 | 4.8 |
| リン酸 (mmol/l) | 1.21 | 1.08 | 1.28 | 0.88 | 0.73 | 0.95 |
| 尿素 (mmol/l) | 5.2 | 2.8 | 5.2 | 4.2 | 2.9 | 4.2 |
| クレアチニン (μmol/l) | 102 | 86 | 100 | 96 | 84 | 90 |

健康な対象者と同様にして、腎疾患を有する患者を治療することができる。

3. ミニブードル犬の治療の例

すべてのミニブードル犬を1つの育生業者から購入した。これらは1頭の雄(34cmの肩高)及

雌(30cmの肩高)の2頭の雄(30cm及び32cmの肩高)からの子孫であった。60日齢において、これらは本発明者等の動物舎に移された。IGF-I注入のために1腹を用い、そして対照として他の1腹を用いた。1腹からの動物を生まれた時から骨端のプレートが骨化する221日齢における実験の終りまで一緒に飼育した。犬は水を自由に摂取し、そして標準的富蛋白質犬用飼料を1日2回任意に摂取した。これらの重量を午前7時～9時に毎日測定した。左前肢を、同じX-線装置を用いて同じ2人の人間により2週間に1回X-線検査した。橈骨の長さをフィルム上で測定した。血液を2週間に1回前肢において静脈穿刺により採取した。

測定

IGF-Iについてのラジオイムノアッセイは、SEP-PAK C₁₈カートリッジ(Waters Associates, ミルフォード, MA)による結合蛋白質の除去の後に行った。イヌIGF-Iと交叉反応するヒトIGF-I

に対するポリクローナル・ラビット抗体を使用し、そしてヒトIGF-Iを標準として用いた(6)。平均IGF-Iレベルは、IGF-I注入動物において、対照におけるより3倍高かった。

IGF-Iの皮下注入

4頭のミニブードル犬(2頭の雄及び2頭の雌)に91日齢～221日齢まで、すなわち合計130日間、IGF-Iを皮下注入した。NRS 3-Infusors(商標)(Disetronic AG, Burgdorf, スイス)を、犬の首上に、皮下カテーテルを覆いそして保護する特別に設計されたガーネット(garnet)(Abbocath

に対するポリクローナル・ラビット抗体を使用し、そしてヒトIGF-Iを標準として用いた(6)。平均IGF-Iレベルは、IGF-I注入動物において、対照におけるより3倍高かった。

クレアチニンの血清レベル

クレアチニンの平均血清レベルは、対照群に比べて、全IGF-I注入期間にわたり有意に低かった(第7図)。

参考文献

1. Guler HP, Zapf J, Froesch ER., 健全な成人における組織ヒトインシュリン様成長因子Iの短期間代謝効果, N Engl J Med 1987; 317: 137-40.
2. Guler HP, Zenobi p, Zapf J, 等、ラット、ミニブタ及びヒトにおけるIGF-I及びII並びに組織ヒトIGF-Iの低血糖性, endocrinology 1986; 118: Suppl: 129, abstract.
3. Scheinwiller E, Guler HP, Merryweather J, Scandella C, Maerki M, Zapf J, Froesch ER., 組織ヒトインシュリン様成長因子Iによるインシ

スリン依存性糖尿病ラットの成長の回復、Nature 1986; 323: 169-71.

4. van Buul-Offers S, Ueda I, Van den Brande JL., 生合成ソマトメジンC (SM-C/IGF-I) によるSnell dwarfマウスの長さ及び体重の増加、Pediatr Res 1986; 20: 825-7.

5. Guler HP, Zapf J, Froesch ER., 組換ヒトインシュリン様成長因子I (rhIGF-I) の皮下注入による、18日間にわたる下垂重切除されたラットの成長の刺激、Proceedings of the 1st European Congress of Endocrinology, Copenhagen 1987; 103, abstract 12-390.

6. Zapf J, Walter H, Froesch ER., 正常対象者並びに成長不全及びすい臓外腫瘍低血糖症を有する患者におけるインシュリン様成長因子I及びIIのラジオイムノ分析 J Clin Invest 1981; 68: 1321-30.

7. Zapf J, Hauri C, Maldivogel H, Froesch ER., 正常ラット及び下垂体切除ラットにおける膵内投与されたインシュリン様成長因子I及びII

の急性代謝効果及び半減期、J. Clin Invest 1986; 77: 1768-75.

8. NOGENSEN CE; 短期及び長期若年性真正糖尿病における糸球体濾過速度及び腎血漿流、Scand J Clin Lab Invest 28: 91-100, 1971.

9. HARRE M, LEBLANC H, SUAREZ L, GUYENNE TT, MENARD J, PASSA P: 持続性ミクロ蛋白尿を有する正圧性糖尿病患者における転換酵素阻害及び腎機能、Br Med J 294: 1448-1452, 1987.

10. THOMSEN K: Lithium clearance: ナトリウム及び水の近位及び遠位尿細管再吸収の新測定法、Nephron 37: 217-223, 1984.

11. JENSEN T, RICHTER EA, FELDT-RASMUSSEN B, KELLBAEK H, DECKERT T: 尿蛋白質の排出の増加を伴うインシュリン依存性糖尿病における傷害された好気性仕事能力、Br Med J 296: 1352-1410, 1988.

4. 図面の簡単な説明

第1図は、対象者(1)における $32.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/時の速度での組換IGF-Iの連続皮下注入の第

一日目における血液グルコース及び遊離IGF-I血清レベルを示す。注入は午前6時30分に開始し、そして血液グルコースが $2.8 \text{ mmol}/\text{l}$ に低下した午後8時に終了した。この時点までの遊離IGF-Iの血清レベルは $20 \text{ ng}/\text{ml}$ の基礎値から $123 \text{ ng}/\text{ml}$ に上昇した。「M」は食事の時刻を示す。

第2図は、 $20.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/時の投与量での組換IGF-Iの定常的皮下注入のもとでの6日間の前、その間の及びその後の2人の対象者における全IGF-Iの血清レベルを示す。

第3図は、 $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/時の投与量での組換IGF-Iの定常的皮下注入のもとでの6日間の前、その間及びその後の2人の対象者におけるC-ペプチド及びインシュリンの血清レベルを示す。

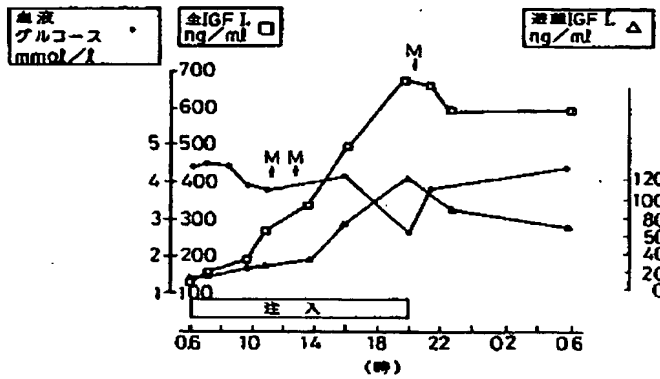
第4図は、IGF-I注入の6日目の夜の(Δ)及び5週間後の対照の夜の(・)の、午後10時から午前6時までの、対象者(2)におけるC-ペプチドのレベルを示す。血液グルコース及びインシュリンはいずれの場合にも正常限界内にあった。点線は測定の検出限界を示す。

第5図は、2人の健康な対象者におけるIGF-Iの定常的皮下注入の前、注入中、及び注入後の ^{125}I -ヨードサラメート(iodothalamate)クリアランスにより測定された糸球体濾過速度(GFR)である。5回の20分間観察期間の平均値を示す。結果の欄に数平均±SDが示してある。

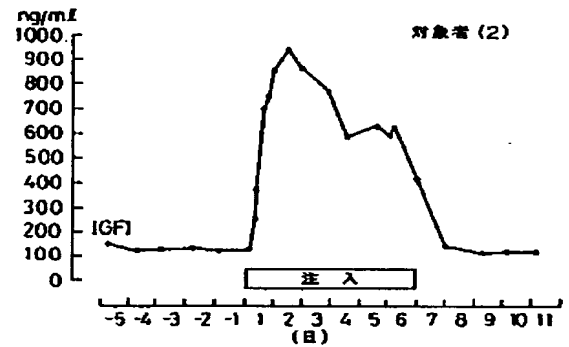
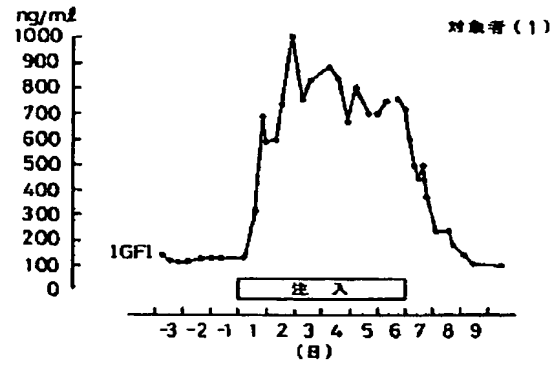
第6図は、2人の健康な対象者におけるIGF-Iの定常的皮下注入の前、注入中、及び注入後の ^{125}I -ヨードヒップレートのクリアランスにより測定された腎血漿流(RPF)である。5回の20分間観察期間の平均値を示す。結果の欄には数平均±SDが示してある。

第7図は、IGF-Iが注入された4頭のミニブードル犬(▲)及び4頭の対照(Δ)におけるクレアチニンの血清レベルを示す。平均値±SDである。

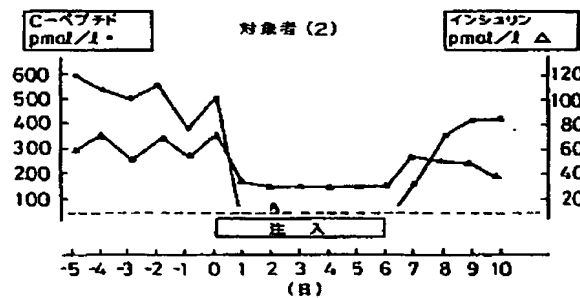
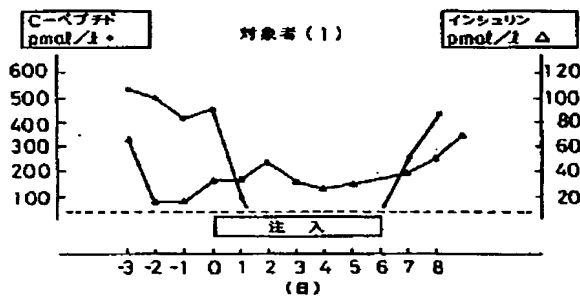
(9)



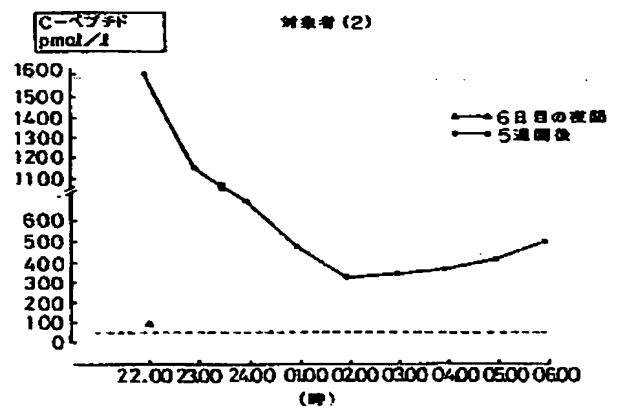
第 1 図



第 2 図

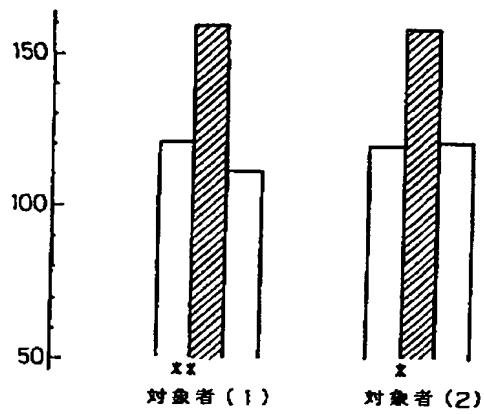


第 3 図



第 4 図

GFR, ml/分/1.73m²



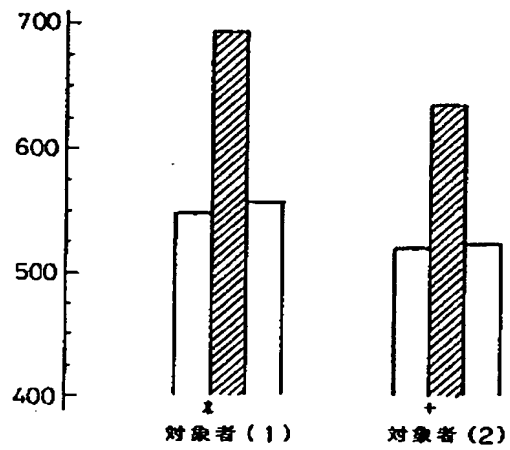
□ 投与前, 投与後
▨ 投与中

xx P<0.0005
x P<0.005

第 5 図

(10)

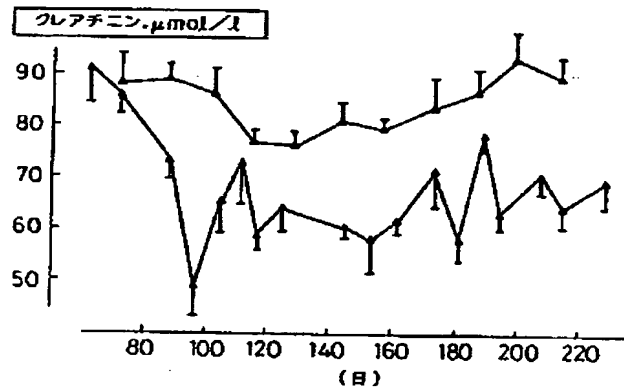
RPF, ml/分/1.73m²



□ 投与前, 投与後
▨ 投与中

x P<0.005
+ P<0.025

第 6 図



第 7 図

第1頁の続き

(11)

②発 明 者 ユルゲン ツアブフ スイス国, 8048 チューリヒ, ギルハルデン シュトラ
セ 36

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.